Acta Zootaxonomica Sinica, 38 (2): 388 – 397 (Apr. 2013) ISSN 1000-0739

A NEW SPECIES OF THE GENUS *PARAMESOTRITON* (CAUDATA, SALAMANDRIDAE)

WANG Chao[1], TIAN Ying-Zhou[2], GU Xiao-Ming[1*]
1. *School of Life Sciences, Guizhou Normal University*, 180 *N Baoshan Rd*, *Guiyang* 550001, *China*
2. *Department of Life Science*, *Liupanshui Normal College*, *Shuicheng* 553004, *China*

Abstract *Paramesotriton caudopunctatus* populations distributed the Wuling Mountains were named a new species, *Paramesotriton wulingensis*, based on morphological differences, nuclear POMC and mitochondrial sequence molecular data, distinguished the Leishan population of *P. caudopunctatus* (topotype) by the following characters: 1) body color is deeper, appearing as dark brown, tubercules of the body back are bigger, apophysis of dorsal ridges is lower for the new species, body color is lighter, brownish yellow, tubercules of the body back are smaller, apophysis of dorsal ridges is higher for the Leishan topotype of *P. caudopunctatus*; 2) the suture in the middle of nose protrusion is deeper for the new species (versus shallower in the Leishan topotype of *P. caudopunctatus*); 3) the suture lines connected to the prefrontal with the nasal is wavy for the new species (versus left and right sides were significantly a "Λ" in the Leishan topotype of *P. caudopunctatus*); 4) for the new species, the squamosal of forehead-squamosal arc vertical reach and the front is crude and the back is fine from dorsal view (versus horizontally reach and the thickness of the front and the back is the same from dorsal view in the Leishan topotype of *P. caudopunctatus*); 5) the frontal branch of pterygoid are longer and arrive at the posterior edge of maxillary for the new species (versus shorter and don´t arrive at the posterior edge of maxillary in the Leishan topotype of *P. caudopunctatus*).

Key words *Paramesotriton*, nuclear gene, mitochondrial gene, molecular systematics, new species.

瘰螈属（有尾目，蝾螈科）一新种

王 超[1] 田应洲[2] 谷晓明[1*]
1. 贵州师范大学生命科学学院 贵阳 550001
2. 六盘水师范学院生命科学系 水城 553004

摘 要 基于形态学差异、核 POMC 和线粒体序列分子数据，把分布于武陵山系的尾斑瘰螈种群定名为 1 新种，武陵瘰螈 *Paramesotriton wulingensis*，其区别于尾斑瘰螈雷山种群（地模标本）鉴别特征为：1）新种体色较深，呈黑褐色，体背面疣粒较大，背脊隆起较低，尾斑瘰螈雷山地模标本体色较浅，呈棕黄色，体背面疣粒较小，背脊隆起较高；2）新种鼻突中间骨缝较深，尾斑瘰螈雷山地模标本鼻突中间骨缝较浅；3）新种前额骨与鼻骨相连的骨缝线呈波浪型，尾斑瘰螈雷山地模标本前额骨与鼻骨相连的骨缝线左右两侧呈明显“Λ”型；4）新种额鳞弧鳞骨直立前伸且背面观前粗后细，尾斑瘰螈雷山地模标本额鳞弧鳞骨水平前伸且背面观弧前后粗细一致；5）新种翼骨前枝较长达到上颌骨后缘，尾斑瘰螈雷山地模标翼骨前枝较短不到上颌骨后缘。

关键词 瘰螈属，核基因，线粒体基因，分子系统学，新种.
中图分类号 Q959.52

瘰螈属 *Paramesotriton* 隶属于两栖纲 Amphibia 有尾目 Caudata 蝾螈科 Salamandridae，已报道 11 种，包括德氏瘰螈 *P. deloustali*、尾斑瘰螈 *P. caudopunctatus*、中国瘰螈 *P. chinensis*、香港瘰螈 *P. hongkongensis*、广西瘰螈 *P. guangxiensis*、富钟瘰螈 *P. fuzhongensis*、龙里瘰螈 *P. longliensis*、织金瘰螈 *P. zhijinensis*、尔宓瘰螈 *P. ermizhaoi*、云雾瘰螈 *P. yunwuensis* 和茂兰瘰螈 *P. maolanensis*。除德氏瘰螈分布

* Corresponding author, E-mail: gxmswx@ 163. com

This research was supported by Key Project of International Science and Technology Cooperation of Guizhou Province [G (2008) 700116] and Science and Technology Fund of Guizhou Province [G (2010) 2071].（贵州省国际合作重点项目［黔科合外 G 字（2008）700116］和贵州省科学技术基金项目［黔科合外 J 字（2010）2071)］资助）

Received 20 Aug. 2012, accepted 8 Apr. 2013.

在越南外，其它物种均分布在中国。原瘰螈属的老挝瘰螈 *P. laoensis*，因独特的形态学特征和分子证据，被认为是一个独立的属，*Laotriton*，相应地更名为 *Laotriton laoensis*（Weisrock *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2008; Dubois & Raffalli, 2009）。

费梁等（2006）将瘰螈属分为尾斑瘰螈种组（仅尾斑瘰螈 1 种）和中国瘰螈种组（该属其余物种），Dubois and Raffaelli (2009) 将尾斑瘰螈放在亚属 *Allomesotriton*，其余物种放在亚属 *Paramesotriton*。Gu *et al.*（2011）认为尾斑瘰螈种组或亚属 *Allomesotriton* 含尾斑瘰螈、龙里瘰螈、织金瘰螈和一个采于荔波的新种群 *P.* sp.，基于荔波新种群独特的形态学特征和核基因、线粒体序列数据，Gu *et al.*（2012）将其定为新种，茂兰瘰螈 *P. maolanensis*。

笔者于 2008 年至 2009 年期间分别采获了一批分布于贵州雷山、江口和重庆酉阳的尾斑瘰螈标本，利用线粒体 D-loop 序列对其进行了遗传多样性和分化研究，发现贵州雷山（苗岭主峰雷公山，地模标本）和贵州江口、重庆酉阳（属武陵山系）的尾斑瘰螈种群之间有了一定程度的分化（陈光照等，2011），且在基于较大片段的线粒体序列（3 189 bp）的瘰螈属分子系统学研究中，贵州江口、重庆酉阳的尾斑瘰螈种群成一单系（Gu *et al.*, 2011）。

本文基于部分核阿黑皮素原（POMC）基因序列、线粒体 Cyt b 序列的瘰螈属物种系统发育研究和形态特征研究，并结合前期分子系统发育研究的基础，确定分布于贵州江口、重庆酉阳的瘰螈为 1 新的物种。

1 材料与方法

1.1 实验材料

瘰螈（重庆酉阳种群，以下简称酉阳种群）8 个标本，2008 年 7 月和 2011 年 7 月采于重庆酉阳县青华林场，瘰螈（贵州江口种群，以下简称江口种群）12 个标本，于 2007 年 7 月和 2011 年 7 月采于贵州江口县梵净山，尾斑瘰螈（贵州雷山种群，地模标本，以下简称雷山种群）10 个标本，分别于 2005 年 7 月、2007 年 7 月和 2009 年 4 月采于贵州雷山县西江、方祥。用于形态学研究的标本保存于75 % 的乙醇中，新鲜的肌肉组织则保存于95 % 乙醇用于分子系统分析。

为研究瘰螈江口种群、酉阳种群与尾斑瘰螈雷山种群和其它瘰螈属物种的系统发育关系，还使用了中国瘰螈、富钟瘰螈、广西瘰螈、龙里瘰螈的 2 个种群（龙里和绥阳种群）、织金瘰螈和茂兰瘰螈，共 22 个个体，加上德氏瘰螈、香港瘰螈和尔泌瘰螈各 2 个个体（来自 GenBank）共 28 个个体（表 1）。

所用标本保存于贵州师范大学生命科学学院，六盘水师范学院生命科学系。

1.2 形态学研究

依据费梁等（2005）的标准对瘰螈江口种群、酉阳种群 10 个成体（5♂♂，5♀♀）进行了形态学测量（包括全长（total length），头体长（snout-vent length），头长（head length），头宽（head width），鼻间距（internasl space），眼径（diameter of eye），尾长（tail length），尾基宽（tail base width），尾高（tail height），前肢长（length of fore leg），后肢长（length of hind leg）和肋至跨距（space between axilla and groin）共 13 个性状，精确到 0. 1 mm，表 2），并与尾斑瘰螈雷山种群的相应数据进行了比较；制作了 4 个头骨标本（酉阳种群、江口种群各 2 个），亦与尾斑瘰螈雷山种群的 2 个头骨标本进行了比较。

1.3 DNA 的提取，扩增，测序

利用上海生工生物工程技术有限公司生产的 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒（SK8251），从保存在 95 % 乙醇的肌肉组织中提取基因组 DNA。

细胞核阿黑皮素原基因（POMC），是一个广泛用于研究有尾目物种系统发育关系的单拷贝的核标记，其扩增引物为 POMC-DRV-F3 和 POMC-DRV-R1（Vieites *et al.*, 2007）。PCR 扩增总体系为 25 μl：12. 5 μl Premix Taq，1 μl 模板 DNA，正反引物各 1μl（10 pmol/μl），去离子水 9. 5 μl。热循环流程：94 ℃预变性 5 min；35 个循环，包括 94 ℃预变性 45 s，48 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 1 min，最后 72 ℃总延伸10 min。

线粒体 Cyt b 基因 PCR 扩增的引物为 mvz15 和 mvz16（Chan *et al.*, 2001）。PCR 扩增总体系为 25 μl：12. 5 μl Premix Taq，1 μl 模板 DNA，正反引物各 1 μl（10 pmol/μl），去离子水 9. 5 μl。热循环流程：95 ℃预变性 5 min，32 个循环，包括 94 ℃预变性 30 s，45 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 1 min，最后 72 ℃总延伸 10 min。

PCR 产物纯化、上述引物双向测序，均由北京诺赛基因组研究中心有限公司完成。

1.4 序列比对和分子系统发育重建

使用用 BioEdit（version 5. 0. 9）软件中的 Clustal X（Thompson *et al.*, 1997）对序列文件进行人工校对，并去除序列中模糊不清的碱基部分，比对好的序列在 NCBI 中进行 blast 相似性搜索（Zhang and Madden, 1997），以对所得序列进行甄别。

表1 内、外群标本和采集地及其对应的核 POMC、线粒体 Cyt b 序列的 GenBank 序列号

Table 1. Taxon sampling for all ingroup and outgroup samples used in this study and GenBank Accession number for the POMC, mt Cyt b sequences of each sample. GZNU = Guizhou Normal University, the Zoology Museum Collection (Guiyang, China).

分类群 Taxon	标本号 Specimen voucher No.	基因银行登录号 GenBank Accession No.		采集地 Locality
		POMC	Cyt b	
P. caudopunctatus	GZNU08072602	JQ680387	JX480873	重庆，酉阳 Youyang, Chongqing, China
P. caudopunctatus	GZNU08072603	JQ680388	JX480874	重庆，酉阳 Youyang, Chongqing, China
P. caudopunctatus	GZNU2007071002	JQ680386	JX480875	贵州，江口 Jiankou, Guizhou, China
P. caudopunctatus	GZNU2007071004	JQ680385	JX480876	贵州，江口 Jiankou, Guizhou, China
P. caudopunctatus	GZNU2007072005	JQ680391	JX480877	贵州，雷山 Leishan, Guizhou, China
P. caudopunctatus	GZNU200904251	JQ680390	JX480878	贵州，雷山 Leishan, Guizhou, China
P. caudopunctatus	GZNU200904252	JQ680389	JX480879	贵州，雷山 Leishan, Guizhou, China
P. maolanensis	GZNU2006030003	JQ680398	JX480886	贵州，荔波 Libo, Guizhou, China
P. maolanensis	GZNU2006030004	JQ680399	JX480887	贵州，荔波 Libo, Guizhou, China
P. maolanensis	GZNU2006030005	JQ680400	JX480888	贵州，荔波 Libo, Guizhou, China
P. longliensis	GZNU20070421001	JQ680392	JX480883	贵州，龙里 Longli, Guizhou, China
P. longliensis	GZNU20070421002	JQ680393	JX480882	贵州，龙里 Longli, Guizhou, China
P. longliensis	GZNU2011111001	JQ680394	JX480884	贵州，绥阳 Suiyang, Guizhou, China
P. longliensis	GZNU2011111002	JQ680395	JX480885	贵州，绥阳 Suiyang, Guizhou, China
P. zhijinensis	GZNU20070415001	JQ680397	JX480880	贵州，织金 Zhijin, Guihzou, China
P. zhijinensis	GZNU20070415002	JQ680396	JX480881	贵州，织金 Zhijin, Guihzou, China
P. chinensis	GZNU200806087	JQ680384	JX480894	浙江，天台 Tiantai, Zhejiang, China
P. guangxiensis	GZNU2006001	JQ680379	JX480889	广西，宁明 Ningming, Guangxi, China
P. guangxiensis	GZNU2006002	JQ680380	JX480890	广西，宁明 Ningming, Guangxi, China
P. fuzhongensis	GZNU2007052001	JQ680381	JX480891	广西，富川 Fuchuan, Guangxi, China
P fuzhongensis	GZNU2007052002	JQ680382	JX480892	广西，富川 Fuchuan, Guangxi, China
P. fuzhongensis	GZNU2006067003	JQ680383	JX480893	广西，富川 Fuchuan, Guangxi, China
P. deloustali	MVZ 223629		GQ303669.1	Tam Dao, Vinh Phu, Vietnam
P. deloustali	MVZ 223628		GQ303668.1	Tam Dao, Vinh Phu, Vietnam
P. ermizhaoi	CIB: GX20070764		AB601426.1	广西，金秀 Jinxiu, Guangxi, China
P. ermizhaoi	CIB: GX20070763		AB601425.1	广西，金秀 Jinxiu, Guangxi, China
P. hongkongensis	GI: 51891033		AY593139.1	未发表 unpublished
P. hongkongensis	GI: 55583412		NC-006407.1	未提及 not mentioned
Pachytriton labiatus	GZNU2004102201	JQ680401	JX480895	贵州，雷山 Leishan, Guizhou, China
Pachytriton labiatus	GZNU2004102202	JQ680402	JX480896	贵州，雷山 Leishan, Guizhou, China
Cynops orientalis	GZNU2006517001		JX480899	河南，信阳 Xinyang, Henan, China
T. asperrimus	GZNU2010052501		JX480897	广西，金秀 Jinxiu, Guangxi, China
T. asperrimus	GZNU2010052502		JX480898	广西，金秀 Jinxiu, Guangxi, China

由于核 POMC 序列非常保守，其种间和种内碱基差异比线粒体序列低得多，构建的贝叶斯树（BI）和最大似然树（ML）大部分分支仅具极低的支持率，故使用软件 TCS v1.21（Clement *et al.*, 2000）构建包括瘰螈江口种群和酉阳种群、尾斑瘰螈雷山种群、中国瘰螈、富钟瘰螈、广西瘰螈、龙里瘰螈的 2 个种群（龙里和绥阳种群）、织金瘰螈和茂兰瘰螈，共 22 个个体的单倍型的网络进化树。

运用软件 Mrbayes 3.0（Huelsenbeck and Ronquist, 2001）构建瘰螈属 11 种 28 个个体的线粒体 Cyt b 序列的贝叶斯树（BI）。运行程序包括 10 000 000代马尔科夫链（Markov chain）分析；老化

表 2 武陵瘰螈量度表

Table 2. The measurements of *Paramesotriton wulingensis* sp. nov. (mm)

项目 Item	正模 Holotype ♂ LPS 20110719	配模 Allotype ♀ GZNU 20110726	副模 Paratypes 5 ♂♂		副模 Paratypes 5 ♀♀	
			Means ± SE	Range	Means ± SE	Range
全长 Total length	133.7	124.8	131.5 ± 1.7	124.4 ~ 138.7	128.8 ± 2.6	113.1 ~ 137.3
头体长 Snout-vent length	76.5	65.0	71.6 ± 1.7	70.4 ~ 77.7	69.3 ± 3.3	59.5 ~ 79.3
头长 Head length	20.3	21.5	20.4 ± 0.3	20.0 ~ 21.7	20.2 ± 0.5	19.2 ~ 21.5
头宽 Head width	15.0	13.0	15.1 ± 0.2	14.4 ~ 15.4	14.3.0 ± 0.4	12.0 ~ 14.3
吻长 Snout length	8.4	8.0	8.4 ± 0.3	7.3 ~ 9.0	7.6 ± 0.2	7.0 ~ 8.1
鼻间距 Internasl space	4.8	4.2	4.8 ± 0.2	4.0 ~ 5.3	4.8 ± 0.2	4.2 ~ 5.1
眼径 Diameter of eye	5.1	4.6	5.2 ± 0.1	5.0 ~ 5.4	4.8 ± 0.2	4.2 ~ 5.2
尾长 Tail length	62.2	59.8	57.9 ± 1.6	54.0 ~ 62.2	61.5 ± 2.2	53.6 ~ 65.6
尾基宽 Tail base width	8.4	6.8	8.0 ± 0.3	7.0 ~ 8.6	7.2 ± 0.2	6.6 ~ 8.0
尾高 Tail height	12.3	10.2	11.4 ± 0.5	9.6 ~ 12.3	10.6 ± 0.2	10.0 ~ 11.0
前肢长 Length of foreleg	19.7	20.0	20.6 ± 0.5	19.6 ~ 22.0	20.9 ± 0.8	19.0 ~ 23.8
后肢长 Length of hind leg	22.0	20.3	21.6 ± 0.4	20.0 ~ 22.0	20.3 ± 0.7	18.0 ~ 21.7
肋至跨距 Space between axilla and groin	29.1	30.4	27.3 ± 0.8	24.6 ~ 29.1	32.8 ± 1.6	28.5 ~ 38.0

值（burn-in values）设定为 2 500 000 代。运用 Modeltest 3.06（Posada *et al.*, 1998）中的 AIC（Akaike Information Criterion）原则，选择 TrN + G 为最优进化模型。并使用软件 Phylip 3.572（Felsenstein, 1993）构建它们的线粒体 Cyt b 序列最大似然树（ML），运行程序包括 1 000 次重复，随机数种子（random number seed）= 5，位点变化率（rates variation among sites）= gamma distributed rates。BI 树和 ML 树均使用东方蝾螈 *Cynops orientalis*、无斑肥螈 *Pachytriton labiatus* 和细痣疣螈 *Tylototriton asperrimus* 作为外群。内群中的德氏瘰螈、香港瘰螈和尔宓瘰螈的线粒体 Cyt b 序列来自 GenBank。

2 结果

2.1 形态学差异

瘰螈（江口种群）5 尾、瘰螈（酉阳种群）5 尾和尾斑瘰螈（雷山种群）7 尾的 13 个性状度量表明，瘰螈（江口种群）、瘰螈（酉阳种群）与尾斑瘰螈（雷山种群）之间不存在显著差异（$P > 0.05$），但瘰螈（江口种群）、瘰螈（酉阳种群）与雷山种群的头骨标本和若干其它形态学性状上存在差异（详见下节），而瘰螈（江口种群）与瘰螈（酉阳种群）标本之间，头骨标本和相应形态学性状均不存在显著差异。

2.2 系统进化分析

人工校对后获得 7 种瘰螈 22 个个体的核基因 POMC 部分序列 460 bp，11 种瘰螈 28 个个体的线粒体 Cyt b 部分序列 743 bp。核 POMC 序列与红腹蝾螈 *C. pyrrhogaster* 的 POMC 序列（AB572298.1）序列的相似性为 94 % ~99 %；线粒体 Cyt b 序列与 *P. caudopunctatus* 的 Cyt b 序列（EU880326.1）的相似性为 94 % ~98 %。POMC 序列与线粒体序列相比，核苷酸变异要低得多。在 7 种瘰螈的 460 bp 的

POMC 序列数据集中仅有 10 个变异位点，其中信息位点为 8 个。无插入/缺失位点；碱基的平均含量分别为：A 30.2 %、T 14.8 %、C 26.7 %、G 28.3 %，A + T（45 %）低于 C + G（55 %）。

在瘰螈属 11 种 743 bp 的线粒体 Cyt b 片段中包括变异位点 275 个，简约信息位点 250 个，保守位点 468 个，无插入/缺失位点；其中碱基的平均含量分别为：A 27.8 %、T 29.8 %、C 26.4 %、G 16.1 %，A + T（57.6 %）高于 C + G（42.4 %）。

2.2.1 基于核基因 POMC 的网络进化

将瘰螈江口种群、酉阳种群与尾斑瘰螈雷山种群分离的核苷酸变异数是 1（0.22 % *p*-distance），瘰螈江口种群、酉阳种群与龙里瘰螈、织金瘰螈之间的核苷酸差异数均是 3（0.65 % *p*-distance），瘰螈江口种群、酉阳种群与中国瘰螈、富钟瘰螈之间的核苷酸差异要高得多，分别为 6（1.30 % *p*-distance）和 5（1.09 % *p*-distance）。

在此分析中未发现杂合体。仅区分出 8 个单倍型（H），且此 8 个单倍型基于 2 个突变位点被分为两支：第 1 支由茂兰瘰螈、龙里瘰螈、织金瘰螈、瘰螈江口种群、酉阳种群和尾斑瘰螈雷山种群组成，第 2 支包括中国瘰螈、广西瘰螈和富钟瘰螈。H1 聚合了来自荔波的茂兰瘰螈的 3 个标本，H2 聚合了龙里瘰螈的 4 个标本（龙里和绥阳种群各 2 个），H3 聚合了聚合了织金瘰螈的 2 个标本，H4 聚合了尾斑瘰螈雷山种群的 3 个标本，H5（由 1 个单一的突变从 H4 分离出）聚合了瘰螈江口种群、酉阳种群的 4 个标本（江口和酉阳各 2 个），H6 聚合了广西瘰螈的 3 个标本，H7（由 1 个单一的突变从 H6 分离出）聚合了富钟瘰螈的 3 个标本，H8（由 1 个单一的突变从 H6 分离出）聚合了中国瘰螈的 1 个标本。所有的种在此单倍型网络中能清楚地分离（图 1）。

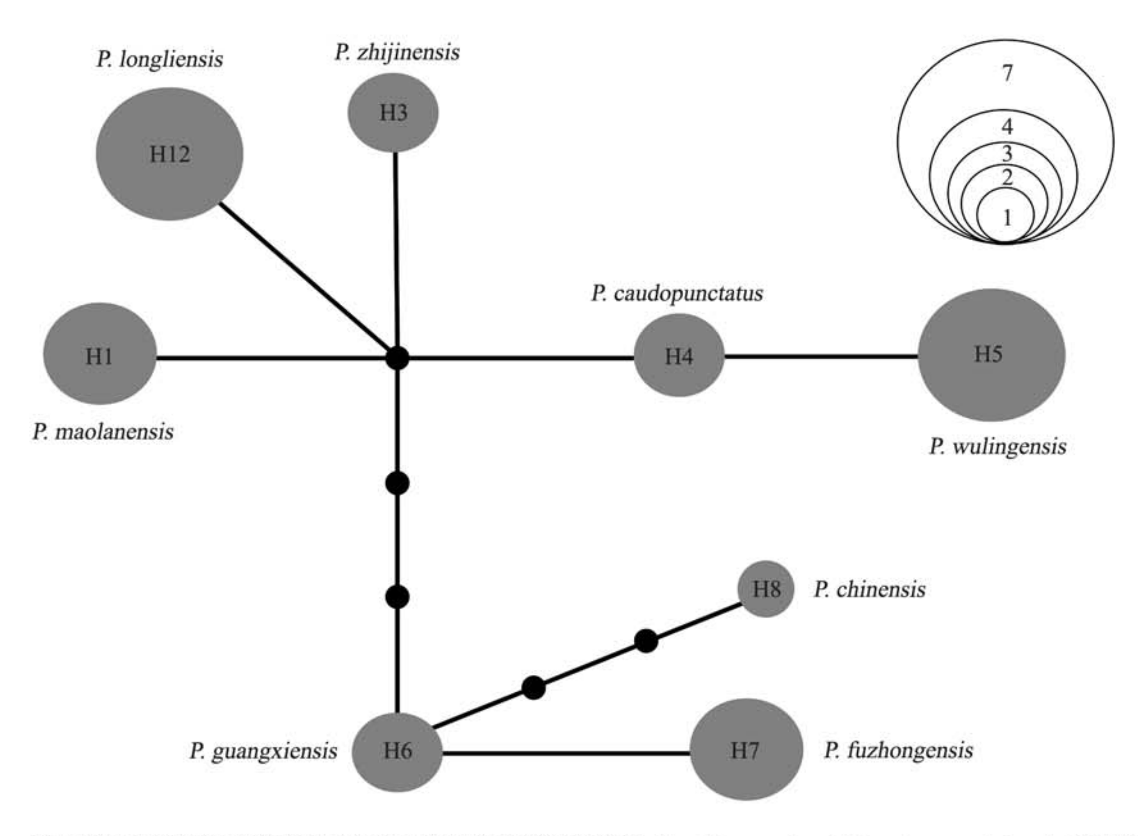


图 1 基于核基因 POMC 片段的 7 个瘰螈属物种的网络进化关系（haplotype network based on variation in POMC sequences in seven *Paramesotriton* species）

H1 ~ H8 表示 8 个单倍型，圆圈的大小对应于某一单倍型的个体数（H8：1 个个体；H3，H4 和 H6：2 个个体；H1 和 H7：3 个个体；H2 和 H5：4 个个体）（H1 – H8 denote eight haplotypes, the size of circles is proportional to the number of individuals bearing a certain haplotype（H8: 1 individual; H3 and H6: 2 individuals; H1, H4 and H7: 3 individual; H2 and H5: 4 individuals）

2.2.2 基于线粒体 Cyt b 的系统发育树

BI 树和 ML 树的拓扑结构基本一致，所有的分支都具有相对较高的支持率。所有瘰螈属物种构成单系，分为分支 A 和分支 B，分别对应于尾斑瘰螈种组和中国瘰螈种组或亚属 *Allomesotriton* 和亚属 *Paramesotriton*。分支 A 由尾斑瘰螈（雷山种群）、瘰

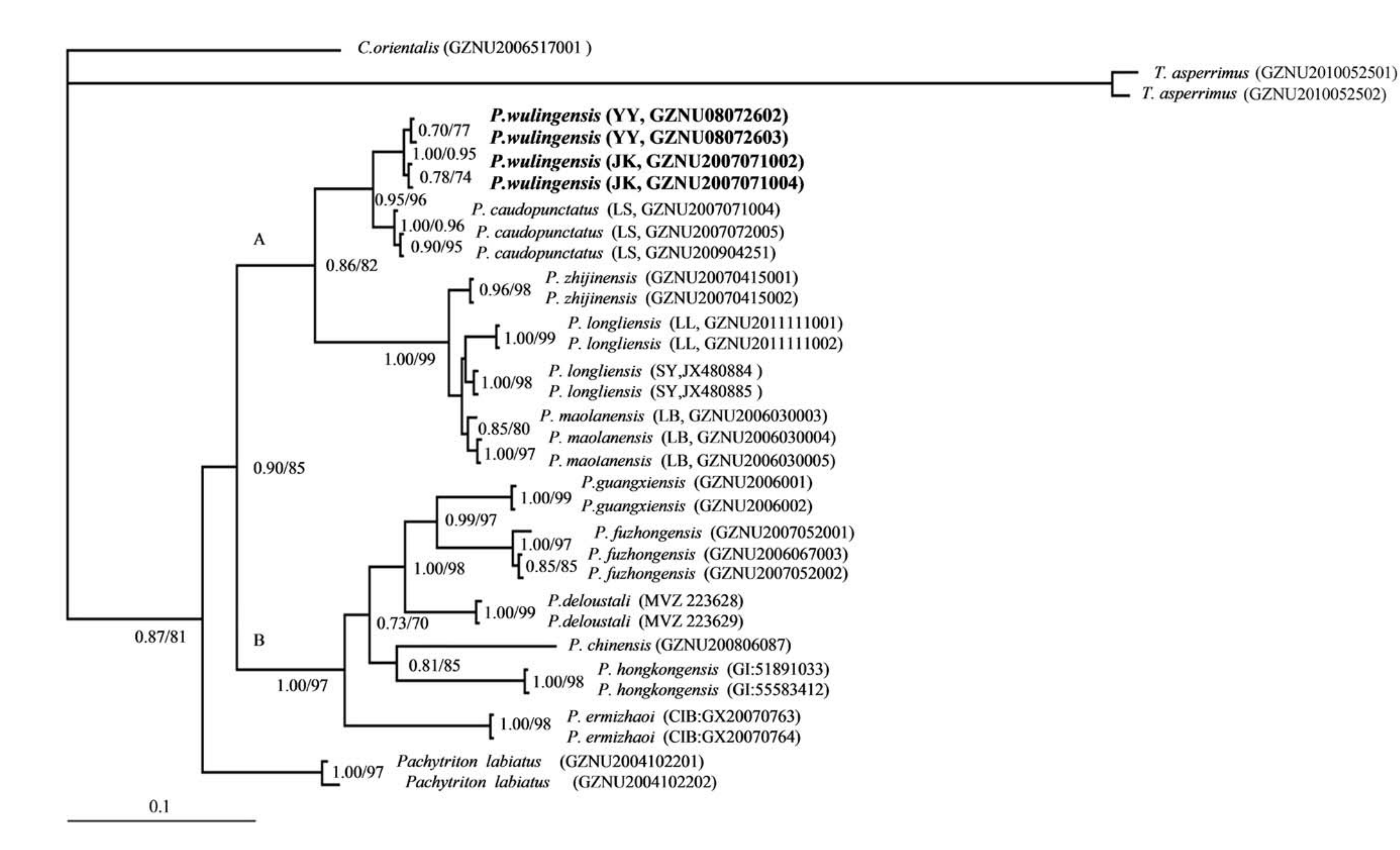


图 2　基于线粒体 Cyt b 序列的瘰螈属物种系统发育关系（云雾瘰螈除外）

贝叶斯树（BI）和最大似然树（ML）具有相同的拓扑结构，分支的支持度量标于系统发生图上。斜线左边为 BI 树各分支的后验率，右边为 ML 树各分支的支持率。支长基于 BI 分析

Fig. 2. Phylogenetic relationships of extant *Paramesotriton* species (except *P. yunwuensis*) inferred from mitochondrial Cyt b sequences. Bayesian inference and maximum likelihood analyses produce identical topology, and their branch-support measures are mapped to the phylogram. Left numbers along diagonal represent Bayesian posterior probabilities, right numbers represent maximum likelihood bootstrap values. Branch lengths were estimated by Bayesian inference analysis.

螈江口种群和酉阳种群、龙里瘰螈（龙里和绥阳种群）、织金瘰螈和茂兰瘰螈组成，尾斑瘰螈（雷山种群）、瘰螈江口种群和酉阳种群亚分支与其它3个成员构成的亚分支［织金瘰螈（龙里瘰螈，茂兰瘰螈）］成姊妹群。在尾斑瘰螈（雷山种群）、瘰螈江口种群和酉阳种群亚分支中，瘰螈江口种群和酉阳种群构成一个单系群，与雷山种群成姊妹群，且从其支长看，两者之间的遗传距离大于同种组（亚属）的织金瘰螈与龙里瘰螈，甚至大于中国瘰螈种组（亚属 *Paramesotriton*）的香港瘰螈与中国瘰螈，德氏瘰螈与广西瘰螈、富钟瘰螈之间的遗传距离。分支B包括尔宓瘰螈、中国瘰螈、香港瘰螈、德氏瘰螈、富钟瘰螈和广西瘰螈，其中富钟瘰螈和广西瘰螈构成的分支是德氏瘰螈的姊妹群，中国瘰螈与香港瘰螈是姊妹种，尔宓瘰螈位于分支B的最基部（图2）。

综上所述，基于形态学上的差异和核 POMC、线粒体 Cyt b 的系统发育证据，支持瘰螈江口种群、酉阳种群为一个独立的物种，描述如下。

2.3 武陵瘰螈，新种 *Paramesotriton wulingensis* sp. nov.（图3～4，6～7，10）

正模，雄性成体，LPS20110719，于2011年7月27日采自重庆酉阳青华林场（29°18′N，108°57′E；海拔800～1 200 m）。配模，GZNU08072605，雌性成体，2008年7月26采自重庆酉阳青华林场。副模5♀♀：GZNU08072601，GZNU08072602 和 GZNU08072603 与配模同时同地采获，LPS20110721 和 LPS20110722 于2011年7月27日采自贵州省江口县梵净山（27°56′N，108°46′E；海拔800～1 200 m）；副模5♂♂：GZNU2007071001，GZNU2007071002 和 GZNU2007071003 于2007年7月10日采自贵州省江口县梵净山，LPS20110720 和 LPS20110721 与正模同时同地采集。



图3～4 武陵瘰螈，新种 *P. wulingensis* sp. nov.，正模（holotype）
图5 尾斑瘰螈 *P. caudopunctatus*（GZNU2011071015，♀和 GZNU2011071016，♂）
3，5. 背面观（dorsal view） 4. 腹面观（ventral view）

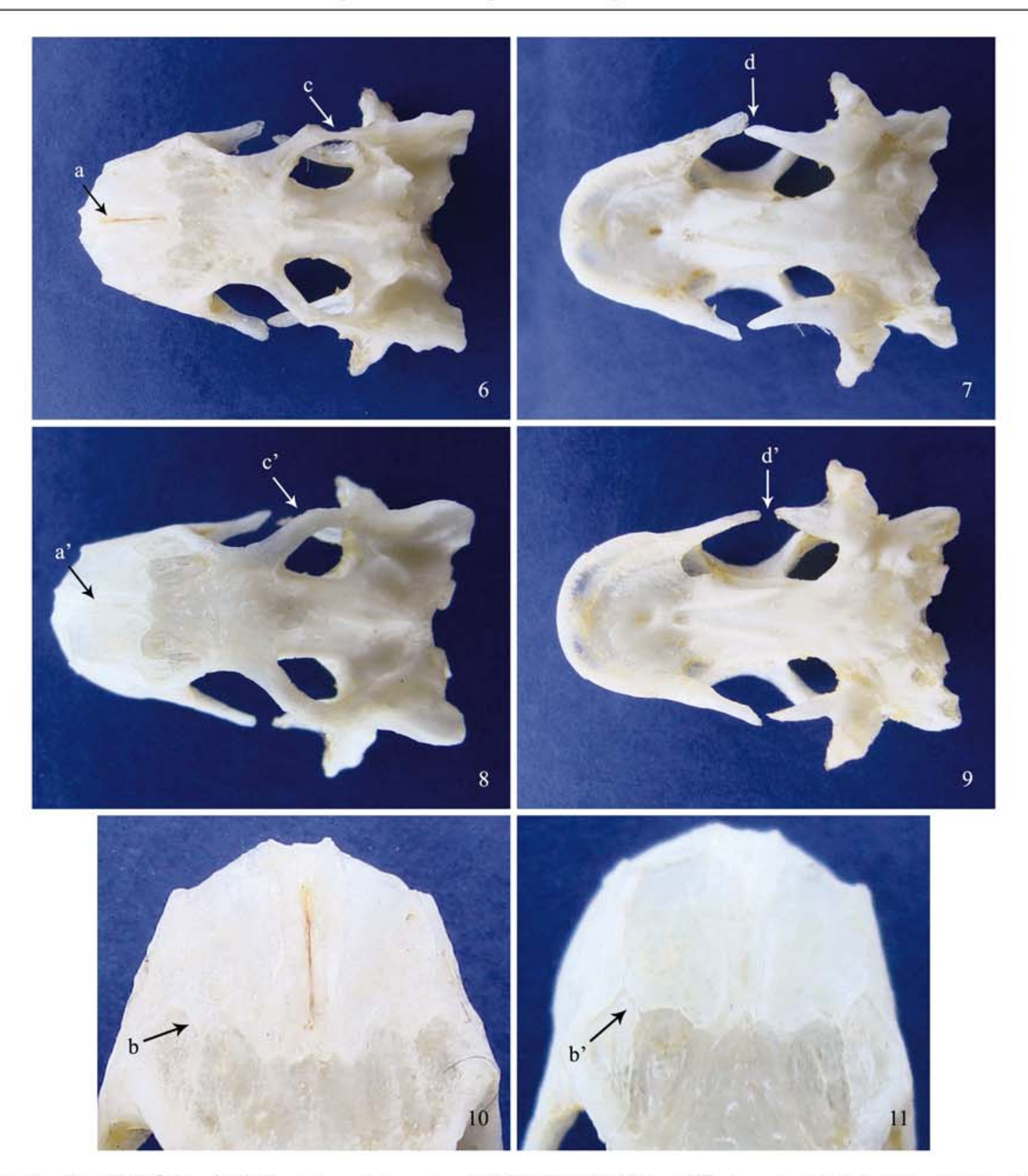


图 6 ~ 7, 10 武陵瘰螈, 新种 *P. wulingensis* sp. nov.（GZNU2006030003, 副模（paratype）♂）图 8 ~ 9, 11 尾斑瘰螈 *P. caudopunctatus*（GZNU 2006030003, ♂）

6 ~ 11. 头骨（skull）6 ~ 7. 背面观（dorsal view）8 ~ 9. 腹面观（ventral view）10 ~ 11. 为图 6, 8 的局部放大（the partial enlargements of 6, 8）a 和 a′. 鼻突中间骨缝（suture in the middle of nose protrusion）b 和 b′. 前额骨与鼻骨相连的的骨缝线（suture lines connected to the prefrontal with the nasal）c 和 c′. 额鳞弧鳞骨（squamosal of forehead-squamosal arc）d 和 d′. 翼骨前枝（frontal branch of pterygoid）

鉴别特征 新种与 *Paramesotriton caudopunctatus*（雷山地模标本）指、趾两侧均有缘膜，雄螈尾部后端两侧有镶黑边的紫红色圆斑或长条形斑而极为相似。但新种体色较深，呈黑褐色；体背面疣粒较粗大；背脊隆起较低；雷山地模标本体色较浅，呈棕黄色；体背面疣粒较细小；背脊隆起较高（图 3 ~ 5）。在头骨特征上，新种鼻突中间骨缝较深；前额骨与鼻骨相连的骨缝线呈波浪型；额鳞弧鳞骨直立前伸且背面观前粗后细；翼骨前枝较长达到上颌骨后缘（图 6 ~ 7, 10）。而雷山地模标本鼻突中间骨缝较浅；前额骨与鼻骨相连的骨缝线左右两侧呈明显“Λ”型；额鳞弧鳞骨水平前伸且背面观弧前后粗细一致，翼骨前枝较短不到上颌骨后缘（图 8 ~ 9, 11）。

正模标本的描述 雄性成体，LPS20110719，全长 133.7 mm，头体长 71.5 mm（表 2）。

头部略扁平，前窄后宽；头长明显大于头宽；吻长大于眼径；吻端平切，突出于下唇，吻棱明显；鼻孔位于吻两侧前端；口裂达眼眶后缘；上唇褶甚明显，从眼下至吻端；上、下颌有细齿，犁骨齿列呈“Λ”形，齿列的前缘在两内鼻孔之间会合；舌椭圆

形，除左右两侧游离外，均与口腔底部粘连。

后肢略长于前肢，略比前肢粗壮；前肢贴体前伸时，指端达到眼眶的前缘，前后肢贴体相对时，指、趾彼此重叠。指、趾略扁，两侧有缘膜，基部有微蹼，末端较平。指4，趾5。

尾长较头体长短，约为头体长的81 %，尾基部圆柱状，向后逐渐侧扁，尾背腹鳍褶较薄而几乎平直，尾末端剑状，后端两侧有镶黑边的紫红色圆斑。

皮肤较粗糙，体背嵴棱隆起，在躯干及尾之大部有不规则横行沟纹，体背到尾部和四肢背面均散有大小不一的痣粒。生活时，体背面呈淡黑褐色，体背嵴两侧痣粒呈黑褐色，咽喉部腹面和身体腹面黑色并缀以不规则的橘红色或橘黄色的点状斑或条形斑，腹中线有1橘黄色纵带。前后肢基部均有橘红色圆形斑点。睾丸豆形，每侧2叶。

头骨长明显大于头骨宽，约为头骨宽1.36倍；前颌骨单枚，上颌骨外侧间距小于方骨外侧间距，左、右鳞骨后突连线超过枕髁后缘水平位置，犁骨齿列呈“Λ”形，前端会合。鼻突长，与额骨相连接，鼻突中间骨缝较深；左右鼻骨被鼻突分开。鼻骨大，位于前颌骨鼻突和上颌骨之间；额骨大，顶骨相对较小，额鳞弧鳞骨直立前伸，从背面看额鳞弧前粗后细，其额骨和鳞骨相接处不膨大；翼骨前端尖细达到上颌骨后端。

角舌软骨中部较宽，左右不相连；上舌骨骨化，末端扁宽，达上鳃骨弯曲部；基舌软骨前部有1对短指状突；角鳃骨2对均骨化；上鳃骨1对，末端上翘，为硬骨。

第2性征　雄螈尾部后端两侧有镶黑边的紫红色圆斑，前后肢基部均有桔红色圆形斑，泄殖腔孔隆起部位大而矮，肛裂为1纵缝，长6~7 mm，其内侧有指状乳突，雌螈泄殖腔孔隆起小而高，肛裂小，椭圆形，呈圆锥状，其内侧无指状乳突。

头骨特征　头骨长明显大于头骨宽，约为头骨宽的1.37倍；前颌骨单枚，上颌骨外侧间距小于方骨外侧间距，左、右鳞骨后突连线超过枕髁后缘水平位置，犁骨齿列呈“Λ”形，前端会合。前颌骨鼻突长，鼻突中间骨缝大；前额骨与鼻骨相连的骨缝线呈波浪型；额鳞弧鳞骨直立前伸且背面观前粗后细，翼骨前枝较长达到上颌骨后缘。

舌器的角舌软骨中部较宽，左右不相连；上舌骨骨化，末端扁宽，达上鳃骨弯曲部；基舌软骨前部有1对短指状突，角鳃骨2对均骨化，上鳃骨1对，末端上翘，为硬骨。

副模标本的变异　部分标本后肢可略长于前肢或前后肢长度大致相等，腹中线无橘黄色纵带，分别占观察标本（10个）的50 %和30 %。

词源：新种种名源自分布地重庆酉阳和贵州江口均属武陵山系。

生活习性　新种酉阳种群和江口种群均生活在海拔800~1 200 m的低山阔叶林小型流溪水流平缓的回水塘或溪边净水域中，白天常隐伏在溪底，有时摆动尾部游泳至水面呼吸空气。该瘰螈游动时四肢贴体，以尾摆动而缓慢前进。通常在夜间活动觅食，觅食时多静伏于水底，当水生昆虫及其它小动物经过嘴边时，即迅速张口咬住而后慢慢吞下。

3 讨论

Freytag（1983）依据Sparreboom（1983）报道的尾斑瘰螈在人工饲养条件下的繁殖行为，结合对其骨骼系统的研究，建议将尾斑瘰螈作为模式种订立新属 *Allemoesotriton*（仅尾斑瘰螈1种）。庞家庆等（1992）比较研究了5种瘰螈的头骨、骨骼系统和舌器，将 *Allemoesotriton* 改隶为瘰螈属的亚属，费梁等（2006）将瘰螈属划分为尾斑瘰螈种组（仅尾斑瘰螈1种）和中国瘰螈种组（该属其余物种），Dubois and Raffaelli（2009）将尾斑瘰螈放在亚属 *Allomesotriton*，其余物种放在亚属 *Paramesotriton*。Gu *et al.*（2011）认为尾斑瘰螈种组或亚属 *Allomesotriton* 包括尾斑瘰螈（雷山地模标本，贵州江口种群和重庆酉阳种群）、龙里瘰螈、织金瘰螈和1个采自荔波的新种群 *P.* sp.（茂兰瘰螈）。在本研究的POMC网络进化分析中，此两个种组或亚属可由2个突变位点清楚地分离，基于线粒体Cyt b系统树的物种间关系与Gu *et al.*（2011）的结果基本一致。

但是POMC网络进化关系中，尾斑瘰螈（雷山种群）、龙里瘰螈、织金瘰螈和茂兰瘰螈均仅由1个突变位点从该分支的基部分离，新种则基于1个突变位点从尾斑瘰螈（雷山种群）分离；广西瘰螈，富钟瘰螈和中国瘰螈的关系也与基于线粒体序列的系统发育树揭示的物种间关系不一致。因此使用更大的核基因片段进一步研究该属物种间的系统发育关系是非常必要的。

陈光照等（2011）以线粒体D-loop序列为分子标记，研究了采自珠江水系（贵州雷山，苗岭山系）和长江水系（贵州江口和重庆酉阳，武陵山系）的尾斑瘰螈5个种群的遗传多样性，发现两个水系的种群之间发生了一定程度的分化，推测这可能是因两水系之间复杂的地理环境差异、两水系的尾斑瘰螈地理种群可能处于相互隔离或半隔离状态所致。Gu *et al.*（2011）在基于线粒体DNA序列（3 189 bp）的瘰螈属系统发育研究中，发现这两个水

系的尾斑瘰螈亦分别成为单系。本研究的结果亦证明，贵州江口和重庆酉阳的瘰螈无疑是一个进化概念下的新物种。然而这个新种与尾斑瘰螈（雷山种群）之间是否存在生殖隔离，尚需进一步研究。另外，分布于湖南江永、道县及广西富川的尾斑瘰螈，是与尾斑瘰螈地模标本（雷山种群）还是与新种武陵瘰螈更为相似，亦需进一步研究。

致谢 六盘水师范学院李松在形态学研究中做了大量工作，中国瘰螈组织标本由中国科学院成都生物研究所江建平教授提供，特此致谢。

REFERENCES

Chan, L. M., Zamudio, K. R. and Wake, D. B. 2001. Relationships of the Salamandrid genera *Paramesotriton*, *Pachytriton*, and *Cynops* based on Mitochondrial DNA Sequences. *Copeia*, 4: 997 – 1 009.

Chen, G-Z, Xiao, Y, Chen, X-P and Gu, X-M 2011. Genetic diversity analysis of D-loop region in populations of *Paramesotriton caudopunctatus*. *Chinese Journal of Zoology*, 46 (3): 55 – 63.

Clement, M., Posada, D. and Crandall, K. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9: 1 657 – 1 660.

Dubois, A. and Raffaelli, J. 2009. A new ergotaxonomy of the family Salamandridae Goldfuss, 1820 (Amphibia, Urodela). *Alytes*, 26 (1 – 4): 1 – 85.

Fei, L, Ye, C-Y, Jiang, J-P, Xie, F and Huang, Y-Z 2005. A Retrieving and Diagrams to Chinese Amphibians. Sichuan Publishing Group and Sichuan Publishing House of Science and Technology, Chengdu, China. pp. 3 – 6.

Fei, L, Hu, S-Q, Ye, C-Y and Huang, Y-Z 2006. Fauna Sinica. Amphibia V01. 1. General Accounts of Amphibia, Gymnophiona and Urodela. Science Press, Beijing, China. pp. 253 – 313.

Freytag, G. E. 1983. Zur systematischen Stellung von *Trituroides caudopunctatus* (Liu & Hu, 1973). Morphometrische und röntgenanatomische Befunde (Amphibia, Caudata, Salamandridae). *Zoologische Abhandlungen Staatliches Museum Für Tierkunde in Dresden*, 39 (2): 39 – 49.

Gu, X-M, Wang, H, Chen, R-R, Tian, Y-Z and Li, S 2011. The phylogenetic relationships of *Paramesotriton* (Caudata: Salamandridae) based on partial mitochondrial DNA gene sequences. *Zootaxa*, 2 060: 59 – 68.

Gu, X-M, Chen, R-R, Tian, Y-Z, Li, S and Ran, J-C 2012. A new species of *Paramesotriton* (Caudata: Salamandridae) from Guizhou Province, China. *Zootaxa*, 3 510: 41 – 52.

Huelsenbeck, J. P. and Ronquist, F. 2001. Mrbayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17: 754 – 755.

Pang, J-Q, Jiang, Y-M and Hu, Q-X 1992. A Systematic Study on the Chinese New Genus *Paramesotriton* (Caudata: Salamandridae). *In*: Jiang, Y (ed.), Collected Papers on Herpetology, Sichuan Science and Technology Publishing House, Chengdu, China. pp. 89 – 100.

Posada, D. and Crandall, K. A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14: 817 – 818.

Felsenstein, J. 1995. Phylip (Phylogeny Inference Package). Version 3. 572. Distributed by the Author, Department of Genetics, University of Washington, Seattle.

Sparreboom, M. 1983. On the sexual behaviour of *Paramesotriton caudopunctatus* (Liu and Hu) (Amphibia, Caudata, Salamandridae). *Amphidia Reptilia*, 4: 25 – 33.

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D. G. 1997. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 24: 4 876 – 4 882.

Vieites, D. R., Min, M. S. and Wake, D. B. 2007. Rapid diversification and dispersal during periods of global warming by plethodontid salamanders. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104: 19 903 – 19 907.

Weisrock, D. W., Papenfuss, T. J., Macey, J. R., Litvinchuk, S. N., Polymeni, R., Ugurtas, I. H., Zhao, E. M., Jowkar, H. and Larson, A. 2006. A molecular assessment of phylogenetic relationships and lineage accumulation rates within the family Salamandridae (Amphibia, Caudata). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 41: 368 – 383.

Zhang, J. H. and Madden, T. L. 1997. Power BLAST: a new network BLAST application for interactive or automated sequence analysis and annotation. *Genome Research*, 7: 649 – 656.

Zhang, P, Papenfuss, T. J., Wake, M. H., Qu, L and Wake, D. B. 2008. Phylogeny and biogeography of the family Salamandridae (Amphibia: Caudata) inferred from complete mitochondrial genomes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49: 586 – 597.